

VORKOMMEN UND DIFFERENZIERUNG
VON PSEUDOMONAS - SPEZIES AUS DER
BAKTERIOLOGISCHEN FLEISCHUNTERSUCHUNG

LUTZ RUPRECHT

-

1975

-



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551910_0034

Aus dem Institut für Hygiene und Technologie der
Lebensmittel tierischen Ursprungs der Universität München

Fachbereich Tiermedizin

Vorstände: Prof. Dr. Dr. h.c. L. Kotter und Prof. Dr. G. Terplan

Vorkommen und Differenzierung von Pseudomonas-Spezies
aus der Bakteriologischen Fleischuntersuchung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin
der Ludwig-Maximilians Universität München

von

Lutz Ruprecht

aus

Berlin

München 1975

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Tiermedizin
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. B. Vollmerhaus

Referent: Priv.-Doz. Dr. W. Kundrat

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. H.G. Buschmann

Tag der Promotion: 21. Februar 1975



Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung	1
B. Literatur	
I. Vorkommen von Pseudomonas-Spezies	
1. Bei Haus- und Schlachttieren	2
2. Bei Fleisch und Fleischprodukten	3
3. Bei Milch und Milcherzeugnissen	5
4. Bei Eiern	6
5. Andere Biotope	7
II. Differenzierung der Pseudomonas-Spezies	8
C. Eigene Untersuchungen	
I. Herkunft der untersuchten Stämme	13
II. Differenzierung	13
III. Methodik	15
IV. Ergebnisse	22
V. Tabellen	25
D. Diskussion	35
E. Zusammenfassung	37
F. Literaturverzeichnis	39

A. Einleitung

1862 fand L ü c k e (zit. bei: M ü l l e r /83/) erstmals bewegliche Gram-negative Stäbchen in Wunden, deren Verbände sich grünspanähnlich färbten. S c h r o e t e r (zit. bei: M ü l l e r /83/) bildete 1872 den Namen *Bacterium aeruginosum* aus dem lateinischen "aerugo" (Grünspan). In Paris erhielt G e s s a r d (35) 1882 Reinkulturen und nannte sie *Pyocyaneus*, was auf griechisch dunkelblauer Eiter bedeutet. M i g u l a (zit. bei: B e r g e y /10/) prägte 1894 den heutigen Gattungsnamen *Pseudomonas*. Nach B e r g e y (10), B e e r (4), C o w a n u. M. (20), S k e r m a n (104) und S t a n i e r u. M. (107) sind die zur Familie der *Pseudomonadaceae* gehörenden *Pseudomonaden*, mit der Typ-Spezies *Pseudomonas aeruginosa*, Gram-negative, einzellige, gerade oder gebogene, mit Hilfe einer oder mehrerer polarer Geißeln bewegliche Stäbchen oder coccoid unbewegliche Bakterien, die keine Endosporen bilden, fakultativ anaerob sind und Alkohol und Kohlehydrate oxidativ spalten. Die auf Lebensmitteln vorkommenden Spezies sind überwiegend lipo- und/oder proteolytisch tätig. Von den 149 Spezies sind nach B e r g e y (10) z. Zt. 90 als pflanzenpathogen bekannt. Ein wesentliches Merkmal dieser Keime ist ihr ubiquitäres Vorkommen, ihre Anspruchslosigkeit dem Milieu gegenüber, ihre Kältetoleranz und hohe Resistenz gegenüber Antibiotika, Desinfektions- und Reinigungsmitteln; Eigenschaften, die ihre Bedeutung in den letzten Jahren erheblich anwachsen ließen.

B. L i t e r a t u r

I. Vorkommen von Pseudomonas-Spezies

1. Bei Haus- und Schlachttieren

P ü s c h n e r u. M. (89) stellten fest, daß von 133 Fällen, bei denen *Pseudomonas aeruginosa* ursächlich gefunden wurde, das Kalb mit 47 % aller Fälle an erster Stelle stand, wobei Pneumonie, Arthritis, Enteritis und Nabelinfektionen überwogen. Das Rind nahm den zweiten Platz ein mit Peritonitis (meist Fremdkörper), Metritis, Mastitis und Enteritis, gefolgt vom Schwein mit Pneumonie und Abszeßbildungen. Die pathologisch-anatomischen Befunde waren bei allen *Pseudomonas*-infektionen in etwa gleich. G e i g e r u. M. (34) berichteten über das Vorkommen von *Pseudomonas chlororaphis* in Kälberlebern mit diffusen Blutungen. Nach R o l l e (94) kommt *Pseudomonas aeruginosa* sowohl auf Schleimhäuten gesunder Tiere als auch im Präputium von Bullen vor. Bei Rind, Pferd, Hund, Schwein und Chinchilla konnte S a u e r (95) *Pseudomonas aeruginosa* in der Milchdrüse und im Genitaltrakt nachweisen. L a m b a r d t (69) berichtete von schweren *Pyocyanus*-Mastitiden bei Kühen nach vorheriger Weidetetanie. M a g i l t o n (78) beschrieb eine Euterentzündung, bei der nach gezwungenermaßen eingeleiteter Euthanasie Reinkulturen von *Pseudomonas aeruginosa* aus

der erkrankten Euterhälfte isoliert wurden.

N i l s s o n u. M. (84) stellten 1967 fest, daß Pseudomonas-Mastitiden in Mittelschweden an Zahl und Heftigkeit zunahmen und zu einem echten Problem wurden. Außerdem isolierten sie Pseudomonaskeime bei hämorrhagischer Enteritis vom Kalb, Schwein und Geflügel, purulent nekrotisierender Pneumonie beim Schwein, Otorrhoe beim Hund und Otitis media beim Schwein. Die ursächliche Mitbeteiligung von Pseudomonas aeruginosa an der Rhinitis atrophicans der Schweine wurde von M e r m e r s k i (80) bewiesen. L o d a u. M. (71) konnten erstmals bei erwachsenen Hühnervögeln eine durch Pseudomonas aeruginosa hervorgerufene Infektion nachweisen, die als akute Sepsis letal verlief.

2. Bei Fleisch und Fleischprodukten

Die am Verderb von Lebensmitteln tierischer Herkunft beteiligten Pseudomonaskeime gehören zu den "Psychrotrophen" oder "Psychrotoleranten" (E d d y /25/, M o s s e l u. M. /82/). 1969 schlug B u s s e (12) die deutsche Bezeichnung "Kältetolerante" vor.

Wie kommt es zur Kontamination? Nach E m p e y u. M. (28) befinden sich pro Gramm trockener Erde im Schnitt 2,8 Mill. kältetolerante Keime. T h o m a s (110) fand 1963 200 - 300 Mill. Psychrophile/g, ähnlich S t o k e s u. M. (105). Aus Wasser wurden einige bis mehrere tausend Keime/ml, aus

Schlamm einige zehntausend isoliert. L o t t (75) fand im Klauenschmutz von Schlachttieren 20 bis 200 Mill./g Kältetolerante Bakterien. Im Faeces vom Rind, Kalb und Schwein ermittelte er Werte von 500 bis 10.000/g. Untersuchungen von Rinderhäuten durch H e s s (50) am Schlachthof Zürich erbrachten Keimzahlen an Psychrophilen von 100.000 bis 1 Mill./g Haarballen.

L o t t (76) berichtete über den Keimgehalt in Hackfleisch und geschnetzelter Leber (Rind, Kalb und Schwein), sowie in Fleischproben aus verkaufsfertigen Kleinpackungen. Die Werte bewegten sich zwischen 10.000 und 5 Mill./g. Außerdem untersuchte er 500 dieser Stämme auf Lipolyse- und Proteolyse-tätigkeit. Tributyrin, Rinderfett, Schweinefett und Butter wurden durch rund 90 % aller Stämme gespalten. Gelatine und Milcheiweiß wurden von 85 bzw. 72 % angegriffen, Rind- und Schweinefleisch dagegen nur von 0,4 bzw. 0,2 %.

Über das Vorkommen von Peptidasen bei *Pseudomonas putrefaciens* berichteten C a m p u. M. (13). A y r e s (2) und H u l t s c h (54) beschrieben den Verderb von Frischfleisch durch *Pseudomonas* bzw. das Vorkommen des Keimes in Fleisch und Fleischwaren. S c h ö n b e r g u. M. (97) bemerkten zur Temperaturabhängigkeit der Proteolyse, insbesondere durch *Pseudomonas fluorescens*, daß die Lagertemperatur von 8 - 10° C in Kühl-tresen z.B. nicht ausreichend wären, um die Vermehrung psychro-toleranter Keime zu hemmen. Ähnliche Untersuchungen bei Hühn-chen wurden von R a y u. M. (91) durchgeführt.

E l l e r (26) isolierte *Pseudomonas ovalis* aus gefrorenen Lebensmitteln, d.h. folienverpackten Fertiggerichten aus vorgekochtem Fleisch, vorgekochten und ungekochten Gemüsen und ungekochten Desserts. Als Ursache für eine partielle Bräterweichung von Würstchen fand

Z e l l e r (117) *Pseudomonas fluorescens*. Über die Anzahl an fluoreszierenden *Pseudomonas*keimen bei Frischfleisch und Geflügel gaben S i l l i k e r u. M. (103) Auskunft.

3. Bei Milch und Milcherzeugnissen

1942 isolierten L o n g u. M. (73) *Pseudomonas putrefaciens* aus roher Milch, süßem Rahm und gesalzener Butter, die eine verwesende oder käsige Verfassung zeigte. C l a y d o n (17) fand *Pseudomonas* als Ursache für einen skunkähnlichen Geruch von Sahne. K r ü g e r u. M. (67) stellten in einem Vorzugsmilchbetrieb in 60 % der untersuchten Milchproben *Pseudomonas aeruginosa* fest. Die Proben waren aber nur dann positiv, wenn mit der Melkmaschine gemolken wurde. Die handermolkenen Proben waren stets negativ. Daraus wurde gefolgert, daß mangelnde Reinigung bzw. Desinfektion die Ursachen der Kontamination waren. Eventuell wäre aber auch an ein biologisches "Gleichgewicht" zu denken ("Infektion" mit Säurebildnern beim Handmelken). In Schweden führten T h ö r n e u. M. (111) *Pseudomonas aeruginosa* in Milch auf durch diesen Keim hervorgerufene Mastitiden zurück. K i e l w e i n (57)

fand in pasteurisierter Trinkmilch in erster Linie *Pseudomonas fluorescens*, weniger häufig *Pseudomonas putrefaciens*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas taetrolens*, *Pseudomonas fragi* und einige nicht eindeutig klassifizierte Spezies, als *Pseudomonas*-Spezies I - III bezeichnet. Nach seinen Untersuchungen trat *Pseudomonas aeruginosa* in pasteurisierter Milch nur sehr selten auf. Über Herkunft und Wirkung von *Pseudomonas aeruginosa* in Milch schrieb Grün (40) u. a., daß die Wachstumsbedingungen in Wasser besonders günstig waren, wenn dieses mit Kunststoff in Berührung kam. Dieses Phänomen wies er mit einer einfachen anorganischen Salzlösung (Bushnell-Haas'sche Lösung), angereichert mit Acrylkunststoff, nach. K u n d r a t (68) wies auf die Bedeutung der kältetoleranten Keime hin, wobei das Genus *Pseudomonas* nach Häufigkeit an erster Stelle rangierte. Hierbei handelte es sich um Lipolyse, besonders gefährdet bei *Pseudomonas fluorescens*, Proteolyse und viele Geschmacks- und Geruchsfehler (wie z.B. ranzig, fruchtig, seifig, fischig, faulig und bitter). In zwei Vorzugsmilchbetrieben konnte er *Pseudomonas putrefaciens* aus Milch isolieren, die einen fruchtigen Geschmack aufwies. Als Kontaminationsquelle wurde Wasser gefunden. *Pseudomonas synxantha* ließ in Rahm eine gelb-orange, *Pseudomonas syncyanea* im sauren Bereich (bei Sauermilch usw.) eine blaue Verfärbung auftreten.

4. Bei Eiern

Über den Verderb von Eiern in der Schale durch *Pseudomonas*

berichtete H a i n e s (41), L o r e n z u. M. (74)
und E l l i o t t u. M. (27).

5. Andere Biotope

S c h i e k (96) wies auf eine zunehmende Rolle von *Pseudomonas aeruginosa* als Erreger des infektiösen Hospitalismus hin. Als "Verbreitungswege" des Keimes wurden genannt: Ausguß, Seife, Handtuch, Patientenhand, Patient.

B o u r g a i n u. M. (7) stellten als häufige Verunreinigung von Blutkonserven *Pseudomonadaceen* fest. Aus Ägypten wurden 1948 nach S e i d e l u. M. (99) 125 Ausbrüche von Lebensmittelvergiftungen berichtet, 30 davon konnten auf *Pseudomonas aeruginosa* zurückgeführt werden. F r ä n k e l (30) berichtete über Konjunktivitiden und die sogenannte *Pyocyaneus*-Ruhr, S o n n e n s c h e i n (106) über Entzündungen des Mittelohrs und der Gallenwege, M e u s e r u. M. (81) über Harninfektionen. K r e i t n e r (66), C o l e b r o o k (18) und D u n c a n u. M. (24) erörterten die Probleme der Wundinfektion. W a s s e r m a n n (114) gab Auskunft über Nabelschnurinfektionen bei Neugeborenen, K r e i t n e r (66) über *Pyocyaneus*-Fälle bei Bronchiektasien. P o e t s c h k e (87) zeigte, daß 60 % der Proben von untersuchter roher Frauenmilch mit Darmkeimen oder *Pseudomonas aeruginosa* verunreinigt waren.

II. Differenzierung der Pseudomonas-Spezies

Die Abgrenzung des Genus *Pseudomonas* ist unklar und vermischt. Überlappungen mit *Xanthomonas*, *Methanomonas*, *Hydrogenomonas*, *Comamonas*, *Vibrio sensu lato*, *Acetomonas* sind vorhanden, möglicherweise auch mit *Alginomonas*, *Cellulomonas* und *Cellvibrio* (S t a n i e r u. M. /107/). Häufig gehen die Ansichten in der Literatur über die Differenzierung auseinander. J e s s e n (56), L y s e n k o (77), R h o d e s (92), S h e w a n u. M. (101) und S t a n i e r u. M. (107) reduzierten die in Bergey's Manual beschriebene Zahl der Spezies teilweise recht erheblich. S t a n i e r u. M. (107) teilten z.B. die von ihnen in vielen und aufwendigen Verfahren untersuchten Kulturen in drei Gruppen ein, nämlich in die *Fluorescens*-, die *Acidovorans*- und die *Alcaligenes*-Gruppe. Zur groben Differenzierung dient in erster Linie die makroskopische Betrachtung der Kolonien auf einfachen Peptonmedien und die mikroskopische Erfassung der Bakterienmorphologie (B r e e d u. M. /10/, S k e r m a n /104/). Die Poly-Hydroxibuttersäure (ein organischer Reservestoff in Bakterienzellen) ist laut S t a n i e r u. M. (107) für eine erste Unterteilung des Genus *Pseudomonas* gut geeignet. Sie wurde 1958 von W i l l i a m s o n u. M. (116) mit Hilfe der Phasenkontrastmikroskopie entdeckt. D o u d o r o f f u. M. (23) stellten fest, daß bei Stickstoffmangel die Speicherung organischer Reservestoffe erhöht wird.

Physikalisch-chemische Tests sind die Bestimmung des Wachstumsbereiches (Breed u. M. /10/, Cowan u. M. /20/, Haynes u. M. /46/, Kielwein /59/, Schubert u. M. /98/, Stanier u. M. /107/), die Kochsalzresistenz (Cowell /19/, Rhodes /92/) und die pH-Grenzwertbestimmung (Cowell /19/, Rhodes /92/, Riker u. M. /93/). Eine relative Einteilung ist dadurch gegeben, daß viele Spezies Pigmente und/oder fluoreszierende Stoffe bilden (Breed u. M. /10/, Hendrie u. M. /48/, Kielwein /58/, Schubert u. M. /98/, Skeraman /104/, Stanier u. M. /107/), wobei die ersteren stark medienabhängig sind (Gessard /35/, Stanier u. M. /107/). Laut Schubert u. M. (98) und Stanier u. M. (107) sind die Nährböden nach King u. M. (60) zum Nachweis der Phenazinderivate bzw. der Fluorescine gut geeignet. Die Bildung von Indigotin durch *Pseudomonas indologens* erfaßt die Methode nach Gray (39). Nach Pulverer u. M. (88) bildet die *Pseudomonas aeruginosa* acht Farbstoffe: Pyocyanin, Oxyphenazin, *Pseudomonas blue protein*, Fluorescin, Pyorubin, Chlororaphin, Phenazin- α -Carbonsäure, Heterocyanine und einen "braunen Farbstoff". Mit biochemischen Tests studierten Schubert u. M. (98) und Stanier u. M. (107) den Ortho- und Metaabbau von aromatischen Verbindungen. Sherris u. M. (100), Stanier u. M. (107) und Thornley (112) prüften die Fähigkeit der Argininspal-

tung. Zum Nachweis der Proteasen bedienten sich B e r -
g e y (10), F r a z i e r (32), K i e l w e i n (58),
K l i n g e (61), L y s e n k o (77), S c h u b e r t
u. M. (98), S k e r m a n (104) und S t a n i e r u. M.
(107) der Gelatineverflüssigung, F r a z i e r u. M. (33),
G i l l a r d i (36) und K i e l w e i n (58) des Kaseinab-
baus. Zum Lecithinasenachweis benutzten K i e l w e i n
(58), S t a n i e r u. M. (107) die Eigelbreaktion. Das
Wachstum in Lakmusmilch beobachteten B e r g e y (10),
K i e l w e i n (58) und S k e r m a n (104). Tributyryn
oder Tween 80 zogen K i e l w e i n (58), R h o d e s (92),
S i e r r a (102) und S t a n i e r u. M. (107) zum Nach-
weis der Lipolysefähigkeit heran. Die Esteraseproduktion
wurde von S t a n i e r u. M. (107) nachgeprüft, die
Katalaseproduktion von C o l w e l l (72), L e v i n e
u. M. (70) und R h o d e s (92). Über den Oxidations- und
Fermentationstest von H u g h und L e i f s o n (53)
geben H e n d r i e u. M. (48), L y s e n k o (77),
R h o d e s (92) und S t a n i e r u. M. (107) Auskunft.
Weiter testete man die Nitratreduktion (B r e e d u. M. /10/,
S c h u b e r t u. M. /98/, S t a n i e r u. M. /107/),
das Indolbildungsvermögen (R h o d e s /92/), die Stärkehy-
drolyse (R h o d e s /92/, S c h u b e r t u. M. /98/,
S t a n i e r u. M. /107/), den Laktoseabbau (K i e l w e i n
/58/, S t a n i e r u. M. /107/), die Harnstoffspaltung
(C h r i s t e n s e n /15/), die Schwefelwasserstoffbildung

(G r a e v e n i t z u. M. /38/) und die Aesculin-
hydrolyse (K i e l w e i n /58/, R h o d e s /92/,
S c h u b e r t u. M. /98/, S n e a t h /105/).
R h o d e s (92) und S t a n i e r u. M. (107)
prüften die Zitratausnutzung, K i e l w e i n (58)
verwendete die Chinasäure als einzige Kohlenstoffquelle.
S t a n i e r u. M. (107) testeten die Malonatverwertung
und eine Vielzahl weiterer Substanzen als einzige Kohlen-
stoffquelle von geringerer Bedeutung.

Auskunft über Antibiotika-Resistenz geben A n d r i e u
u. M. (1), B e r g m a n n u. M. (5), B e r n s t e i n
u. M. (6), B u r t o n u. M. (11), C a s e l i t z (14),
C h r i s t i e u. M. (16), C u r t i n u. M. (21),
F a i r b r o t h e r u. M. (29), H a u c k (44),
H e n n e b e r g u. M. (49), H i r s c h (51), K n i g h t
u. M. (62), K ö h l e r (63), K r e b s u. M. (65),
M c M i l l a n u. M. (79), M e u s e r u. M. (81), P e -
t e r s d o r f u. M. (86), S w i f t (109) und W h i t e
u. M. (115).

Von einer bakteriolytischen und bakteriziden Fähigkeit seitens
Pseudomonas aeruginosa berichtete 1888 schon B o u c h a r d
(zit. bei: L o d e /72/). Dieses antibiotisch wirkende Agens
betrachtete man als Ferment und nannte es "Pyocyanase".

R a u b i t s c h e k u. M. (90) bezweifelte aufgrund der
Hitzestabilität den Fermentcharakter. 1939 beschrieb K r a -
m e r (64) die Wirksamkeit der Pyocyanase gegenüber Vibrio

metschnikoffii, Milzbrandbazillen, Diphtheriebakterien, Escherichia coli, Salmonella typhi, Shigellen, Streptococcen, Staphylococcen und Proteus.

Die Bildung von Bacteriocinen, bzw. Pyocinen und ähnlichen Substanzen erforschten Bradley (8), Brandis u. M. (9), Darrell u. M. (22), Gillies u. M. (37), Hamamura (42), Hamon (43), Holloway (52), Hays u. M. (47), Jacob (55), Paterson (85) und Wahba (113).

Bei dieser Arbeit galt es, möglichst aussagekräftige und unkomplizierte Differenzierungsmethoden anzuwenden, um die für die Nahrungsmittelmikrobiologie wichtigen Pseudomonas-Spezies rasch und exakt zu bestimmen.

C. Eigene Untersuchungen

I. Herkunft der untersuchten Stämme

Vom 1.1.1973 bis einschließlich 31.12.1973 fielen bei der bakteriologischen Fleischuntersuchung am Städtischen Schlachthof München 166 als *Pseudomonas* identifizierte Stämme an, die mir freundlicherweise zur Verfügung gestellt wurden. Diese stammten sowohl aus dem Schlachthof München selbst, als auch aus dessen Einzugsbereich. Über die jahreszeitliche Verteilung der hier differenzierten 146 Stämme gibt die Tabelle 1 Auskunft. Eine Aufstellung der Fleischbeschaudiagnosen von 130 Tieren, davon 65 Kälber, 24 Kühe, 4 Bullen, 32 Schweine, 2 Schafe und 3 Pferde, zeigt Tabelle 2. Die Diskrepanz zwischen der Anzahl der Tiere und Anzahl der Diagnosen ergab sich daraus, daß je Schlachtkörper oft mehrere Diagnosen gestellt wurden.

II. Differenzierung

Zur Identifizierung der 166 Stämme wurden Verfahren ausgewählt, die den fleischhygienisch bedeutungsvollen *Pseudomonas*-Spezies gerecht werden sollten. Vereinzelte Verunreinigungen, besonders durch Mikrokokken, wurden durch die mikroskopische Untersuchung (Gram-Färbung) festgestellt. Durch anschließende Plattenpassage und erneute mikroskopische Überprüfung wurde eliminiert.

Durchgeführte Untersuchungsmethoden:

1. mikroskopische Untersuchung, Gram-Färbung
2. Beweglichkeitsprüfung
3. Wachstumsbestimmung bei 5°, 37° und 42° C
4. Pigmentbildung
5. Löslichkeit der Pigmente
6. Spaltung von:
 - a) Arginin
 - b) Gelatine
 - c) Kasein
 - d) Tributyrin
 - e) Glucose (O-F-Test)
 - f) Maltose
 - g) Laktose
 - h) Mannit
 - i) Stärke
 - k) Harnstoff
 - l) Citrat
7. Nitratreduktion
8. Katalase
9. Indolbildungsvermögen
10. Schwefelwasserstoffbildung
11. Kochsalzresistenz

Weiter wurde die Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika getestet und auch die eigene Hemmstoffproduktion geprüft. Die Tabelle 3 umfaßt vier wichtige Spezies. Bei ihrer Ausarbei-

tung wurden verschiedene Autoren (4, 10, 20, 29, 33, 36, 45, 46, 48, 58, 61, 70, 77, 98, 100, 101, 104, 107, 112) berücksichtigt.

III. Methodik

Die Züchtung der einzelnen Kulturen erfolgte auf Schrägagar bei 30° C (Standard II-Nähragar, MERCK), die Aufbewahrung bei Zimmertemperatur. In Abständen von ca. 6 Wochen wurden die Stämme überimpft.

1. Gram-Färbung

Die Gram-Färbung wurde folgendermaßen durchgeführt: nach vorangegangener Fixation der Keime auf dem Objektträger 1 min lang mit alkoholisch-wässriger Ammoniumoxalat-Kristallviolett-Lösung (2 g 90%iges Kristallviolett, 20 g 95%iger Äthylalkohol, 0,8 g Ammoniumoxalat, 80 ml Aqua dest.) färben, dann mit Leitungswasser abspülen, anschließend mit Lugol'scher Lösung überschichten, mit Wasser abspülen und mit Filterpapier trocknen, danach 30 sec lang in 95%igem Alkohol differenzieren und 10 sec lang mit Safranin-Lösung (10 ml 2,5%ige alkoholische Safranin-Lösung, 100 ml Aqua dest.) gegenfärben, anschließend waschen und trocknen.

2. Beweglichkeitsprüfung

0,8 % Agar in Standard II-Bouillon im Dampftopf lösen, filtrieren und zu 10 ml in sterile Röhrchen abfüllen, 15 min bei 121° C und 1,1 atü autoklavieren. Es wurde

im Stich beimpft und zwei bis sieben Tage bei 30° C bebrütet. Ein Auswandern der Kolonien bzw. Wurzelbildung um den Stichkanal galt als positiv.

3. Wachstumsbestimmung bei 5°, 37° und 42° C

(nach H a y n e s u. M. /46/).

Beimpfung von 10 ml Standard-Bouillon-Röhrchen; bei 42° C Bruttemperatur im Wasserbad auf 42° C vorgewärmt; bei 42° und 37° C betrug die Bebrütungszeit zwei Tage, bei 5° C zehn Tage. Ein Wachstum wurde an der Trübung erkannt.

4. Pigmentbildung und Fluorescein-Nachweis

Zum Nachweis der Pigmentbildung diente das Medium A, zum Fluoreszinnachweis das Medium B nach K i n g u. M. (60). Das A-Medium hatte folgende Zusammensetzung: 20 g Bacto-pepton DIFCO, 10 ml Glycerin MERCK, 10 g K_2SO_4 (wasserfrei), 1,4 g $MgCl_2$ (wasserfrei), 15 g Bactoagar, 1000 ml Aqua dest. Das Medium B wurde in der Modifikation von S c h u b e r t u. M. (98) verwendet: 10 g Bacto-Hefeextrakt, 50 g Saccharose (um neben der Fluoreszin-Bildung gleichzeitig die Levan-Bildung zu prüfen), 20 g Proteose Pepton Nr. 3 DIFCO, 10 ml Glycerin MERCK, 1,5 g K_2HPO_4 (wasserfrei), 1,5 g $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$, 15 g Bactoagar, 1000 ml Aqua dest. Nach dem Lösen wurden beide Nährböden auf pH 7,2 eingestellt und 20 min bei 0,8 atü sterilisiert. Die Beimpfung erfolgte im Pétrischalenausstrich, bebrütet wurde drei Tage bei 30° C. Fluoreszin wurde im UV-Licht nachgewiesen. Bei Levanbildung

zeigte sich um den jeweiligen Stamm herum ein grau-gelber trüber Hof.

5. Wasserlöslichkeit der Pigmente

Hierzu wurde King A-Bouillon benutzt, je Röhrchen 7 ml und 20 min bei 0,8 atü autoklaviert. Es wurde sieben Tage bei 30° C bebrütet. Nach Zugabe von 2 ml Chloroform/Röhrchen, Durchschütteln und einer Wartezeit von einigen Minuten wurden die nicht wasserlöslichen Pigmente in der Chloroform-Phase sichtbar.

6. Spaltung von

a) Arginin

Zum Nachweis der Argininhydrolyse diente die Bouillon nach M o e l l e r (zit. bei: S h e r r i s u. M. /100/): 5 g Peptone/Evans, 5 g Lab Lemco, 0,005 g Pyridoxal, 0,5 g Glucose, 10 g L-Arginin-Monohydrochlorid, 0,01 g Bromkresolpurpur, 0,005 g Kresolrot und 1000 ml Aqua dest. Nach dem Lösen wurde der pH-Wert auf 6,0 eingestellt, sterile Röhrchen mit 2 ml beschickt und 15 min bei 121° C und 1,1 atü autoklaviert. Die Bebrütung erfolgte bei 30° C. Bei Argininhydrolyse zeigte sich nach ein bis zwei Tagen ein Farbumschlag von grau nach violett. Keime in Moeller-Bouillon, die Säure zu bilden vermögen, färbten beide Proben gelb. Bei denen, die sowohl Glucose als auch Arginin spalteten, wurde das Arginin-Röhrchen violett, das andere gelb. In den beiden letzten Fällen handelte es sich nicht um *Pseudomonas* ssp.

b) Gelatine

Es wurde die Methode nach F r a z i e r (32) benutzt, wobei nichthydrolysierte Gelatine durch Trübung zu erkennen war.

c) Kasein

1 % Magermilch (100 g Magermilchpulver/l Wasser) wurden zu Standard II-Nähragar gegeben, drei Tage tyndallisiert und anschließend bebrütet. Nach Beimpfung und Bebrütung (30° C) zeigte die jeweilige Kolonie bei Kaseinabbau eine Aufhellung.

d) Tributyrin

Nach dem Autoklavieren von Standard II-Agar und Abkühlen auf ca. 45° C ("Wangenprobe") fügte man dem Nährboden 1 % Tributyrin-MERCK hinzu. Durch kräftiges Schütteln erreichte man eine gleichmäßige Verteilung. Je sieben Stämme wurden auf eine Platte geimpft und sechs Tage bei 30° C bebrütet. Um lipasepositive Stämme herum zeigte sich eine Aufhellung des getrübbten Nährbodens.

e) Glucose (O-F-Test)

Der Nährboden (H u g h und L e i f s o n /53/) setzte sich wie folgt zusammen: 2 g Pepton, 5 g NaCl, 0,3 g K_2HPO_4 , 3 g Agar, 3 ml einer 1 %igen Bromthymolblau-Lösung auf 1000 ml Wasser. Nach dem Lösen im Dampftopf wurde auf pH 7,1 eingestellt und 20 min lang bei 121° C

und 1,1 atü autoklaviert. Nachdem man 10 ml einer 10 %igen Glucoselösung zu je 100 ml Nährboden dazugegeben hatte, füllte man in Röhrchen zu 5 ml ab und beimpfte im Stich. Zum Nachweis der fermentativen Spaltung wurden die Röhrchen mit einem Vaspar-Verschluß (Vaseline-Paraffin-Gemisch) verschlossen. Nach Bebrütung (30° C) zeigte sich bei Glucosespaltung ein Farbumschlag von blau nach gelb.

f,g,h) Maltose, Laktose und Mannit

Zu Standard II-Nähragar gab man 3 ml einer 1 %igen wässrigen Bromthymolblaulösung. Nach dem Autoklavieren (15 min bei 121° C und 1,1 atü) wurden Platten gegossen, die 1 ml der jeweiligen Bouillonkultur enthielten. Auf den erstarrten blauen Nährboden legte man mit Maltose, Laktose und Mannit präparierte Testplättchen (MERCK). Nach zwei bis drei Tagen Bebrütung (30° C) zeigte sich bei Vergärung ein gelber Hof.

i) Stärke

Mit 2 % löslicher Stärke versetzter Standardagar wurde autoklaviert (15 min bei 121° C und 1,1 atü) und in Petrischalen gegossen (ca. 15 ml). Der Beimpfung im Strich folgte eine 48stündige Bebrütung bei 30° C. Nach vorangegangener Überschichtung mit Lugol'scher Lösung war hydrolysierte Stärke durch eine klare Zone zu erkennen.

k) Harnstoff

Es wurde der Eisen-Dreizucker-Harnstoff-Agar nach B a d e r u. M. (3) benutzt. Man beimpfte schräg und als Stich und bebrütete drei Tage bei 30° C. Die Auswertung erfolgte wie üblich.

1) Citrat

Zur Verwendung von Citrat als alleiniger C-Quelle wurde Simmons Citrat-Agar benutzt. Man beimpfte im Ausstrich und bebrütete fünf Tage bei 30° C. Ein Farbumschlag von grün nach blau zeigte Citratverwendung an.

7. Nitratreduktion

15 g MERCK II-Bouillon und 1,5 g Kaliumnitrat wurden in 1000 ml Aqua dest. gelöst und 5 min bei 121° C und 1,1 atü autoklaviert. Nach fünftägiger Bebrütung bei 30° C entstand bei Nitratreduktion ein roter Azofarbstoff.

8. Katalase

24 Std. alte Röhrenkulturen wurden mit zwei bis drei Tropfen 3 %iger Wasserstoffperoxidlösung versehen. Blasenbildung durch Sauerstoff deutete auf das Vorhandensein von Katalase.

9. Indolbildungsvermögen

Nach fünftägiger Bebrütung bei 30° C zeigte sich bei Indolbildung mit Kovacs-Reagenz ein roter Ring.

10. Schwefelwasserstoffbildung

H₂S-Bildung war durch Schwärzung des Eisen-Dreizucker-Harnstoff-Agars nach B a d e r u. M. (3) zu erkennen.

11. Kochsalzresistenz

Die Prüfung der Kochsalzresistenz wurde in Bouillon und auf festen Nährböden durchgeführt. Zu Standard II-Bouillon wurden 4, 5, 6, 6 1/2 oder 7 % NaCl (jeweils abzüglich der im Nährboden enthaltenen Kochsalzmenge) zugefügt. Nach Autoklavieren und Beimpfen folgte eine 14-tägige Bebrütung bei 30° C.

Der Resistenztest wurde wie folgt durchgeführt: In mit 1 ml Bouillonkultur beschickte Petrischalen goß man 15 ml Standard II-Nähragar und verteilte die Keime. Auf den erstarrten Nährboden legte man Testplättchen mit Neomycin (30 γ), Colistin (50 γ), Chloramphenicol (10 γ), Polymyxin B (300 i. E.), Streptomycin (10 γ) und Oxytetracyclin (30 γ). Bis auf Colistin (9 mm) hatten alle Testplättchen einen Durchmesser von 6 mm. Nach 24-stündiger Bebrütung bei 30° C zeigten Hemmhöfe die Empfindlichkeit gegenüber dem entsprechenden Antibiotikum.

Die Überprüfung der eigenen Antibiotika- bzw. Bakteriocinproduktion erfolgte im Agar-Strichtest, wobei folgende Teststämme benutzt wurden: *Bacillus subtilis* (BGA), *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, Stamm Nr. 7, *Escherichia coli* und *Micrococcus varians* 53. Eine Agar-Platte (Standard-Agar) beimpfte man analog dem CAMP-Test mit dem jeweiligen *Pseudomonas*-Stamm und simultan, nach 24-

stündiger oder 48-stündiger Bebrütung (30° C) rechtwinklig dazu die jeweiligen Teststämmen. Nach 24-stündiger Bebrütung bei 30° C wurden die Hemmzonen ausgemessen.

IV. Ergebnisse

Bei der Gram-Färbung konnten nur Gram-negative stäbchenförmige Keime festgestellt werden. Die Auswertung der Testergebnisse, in den Tabellen 4 und 5, erfolgte nach Tabelle 3. Insgesamt wurden 146 Pseudomonas-Stämme ausgewertet. 20 Stämme, bei denen der Verdacht der Verunreinigung bestand, wurden nicht berücksichtigt. Die Keime zeigten eine fermentative Spaltung von Glucose mit Gasbildung (Nährboden nach H u g h u. M. /53/), es kam zur Gas- und Säurebildung in M o e l l e r 's Bouillon (S h e r r i s u. M. /100/), auch bildeten sie z.T. Schwefelwasserstoff im Nährboden nach B a d e r u. M. (3). Alle Stämme waren beweglich.

Die Bestimmung der Wachstumsbereiche ergab ein 100 %iges Wachstum bei 42° und 37° C, nicht aber bei 5° C.

Auf den Medien nach K i n g u. M. (60) zeigten nur zwei Stämme keine Pigmentbildung. 132 Stämme bildeten chloroformlösliches blaues Pyocyanin, einen Farbstoff, den nur Pseudomonas aeruginosa bilden kann, 144 den Farbstoff Fluorescin. Daneben traten noch andere Farbstoffe auf, die hellgrün, dunkelgrün, oder bräunlich bis cremefarben waren (Tabelle 5). Auf Agarnährböden war die Färbung ausgeprägter als in Bouillon.

Die Prüfung auf Argininhydrolyse verlief bei allen 146 Stämmen positiv, ebenso wie der Abbau von Gelatine und Kasein.

Der mit Tributyrin vollzogene Test auf Fettspaltung erbrachte bei sämtlichen Keimen ein positives Ergebnis.

Glucose wurde von allen Keimen oxidiert, nicht aber Laktose und Maltose. Aus Mannit wurde von 110 Stämmen Säure gebildet.

Citrat wurde von allen Stämmen als alleinige Kohlenstoffquelle ausgenutzt, auch wurde immer Harnstoff, nie aber lösliche Stärke gespalten.

Sämtliche Stämme bildeten Katalase und reduzierten Nitrat. Keine der Kulturen konnte Indol oder Schwefelwasserstoff bilden. Levan entstand nur in einem Falle.

Alle Reinkulturen hatten eine Kochsalzresistenz von 4 bzw. 8 %, nicht aber von 7 bzw. 14 %, wenn Bouillon bzw. Agarnährböden als Substrat verwendet wurden.

Damit konnten die 146 *Pseudomonas*-Stämme als differenziert angesehen werden. Die Diagnose *Pseudomonas* ssp. konnte zu "*Pseudomonas aeruginosa*" erweitert werden.

Der Antibiotika-Test (s. Tabelle 6) ergab, daß alle Stämme gegenüber Neomycin, Polymyxin B und Colistin im untersuchten Bereich empfindlich waren; gegen Streptomycin waren nur sechs Stämme (4,1 %) resistent. Gegen Oxytetracyclin waren nur zwei Kulturen und gegenüber Chloramphenicol nur ein Stamm empfindlich.

Die Strichteste zur Prüfung eigener Hemmstoffe (Bacteriocine) durch *Pseudomonas aeruginosa* gegenüber *Bacillus subtilis* (BGA), *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, Stamm Nr. 7, *Escherichia coli* und *Micrococcus varians* 53 ergaben folgendes Bild (s. Tabelle 7): Bei Simultanbeimpfung vermochten 98,6 % der *Pseudomonas aeruginosa*-Stämme das Wachstum von *Bacillus subtilis* (BGA) zu hemmen, 74,7 % von *Bacillus cereus*, 75,3 % von *Staphylococcus aureus*, Stamm Nr. 7, 71,2 % von *Escherichia coli* und 56,2 % von *Micrococcus varians* 53. Bei 24- bzw. 48-stündiger Vorbebrütung zeigten alle *Pseudomonas aeruginosa*-Stämme gegenüber sämtlichen Teststämmen, bis auf eine Ausnahme, eine wachstumshemmende Wirkung. *Micrococcus* ssp. Nr. 53 wurde von einem Stamm im Wachstum nicht beeinträchtigt.

TABELLE 1

JAHRESZEITLICHE VERTEILUNG DER
146 PS. AERUGINOSA - STÄMME

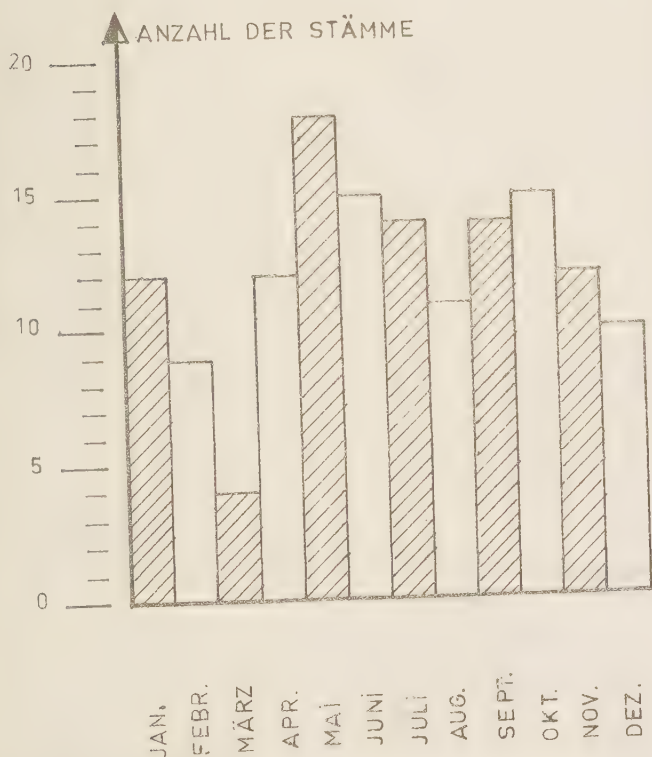


TABELLE 2

PATOLOGISCH-ANATOMISCHE DIAGNOSEN BEI DEN EINZELNEN SCHLACHTKÖRPERN

Diagnose	Kalb	Kuh	Bulle	Schwein	Schaf	Pferd
<i>Pneumonie</i>	45	1	2	10	1	
<i>Lungenemphysem</i>			1			
<i>Pleuritis</i>	3	1	1			
<i>Pericarditis</i>	1	1				
<i>Myodegeneration cordis</i>	1					
<i>Peritonitis</i>	6	4		2		
<i>Fremdkörper peritonitis</i>		2				
<i>Reticuloperitonitis</i>		1				
<i>Hepatitis</i>	1			1		
<i>Leberdegeneration</i>		2				
<i>Leberschwellung</i>	1	2				
<i>Milzschwellung</i>		2				
<i>Nephritis</i>	4	1				
<i>Nierendegeneration</i>		1				
<i>Niereninfarkt eitrig</i>	1					
<i>Nierenblutung</i>	3	1		2		
<i>Nierenschwellung</i>				1		
<i>Enteritis</i>	14	1	1	2		
<i>Tympanie</i>	1			1		
<i>Metritis</i>	1	1				
<i>Petimetritis</i>		1				
<i>Haemometra</i>		1				
<i>Mastitis</i>		6				
<i>Euterwunde</i>		1				
<i>Pancreatitis</i>		2				
<i>Arthritis</i>	6					
<i>Gonitis</i>				1		
<i>Coxitis</i>				1		
<i>Arthritis im Sprunggelenk</i>				2		
<i>Arthritis im Tarsalgelenk</i>				1		
<i>Bruch</i>		1				
<i>Muskelblutung</i>				1		
<i>Darmlähmung (Darmfistellruptur)</i>					1	
<i>multiple Abszesse</i>	1			3		
<i>Abszeß in: Lunge</i>	1	1		2		
<i>Leber</i>	6	3				
<i>Milz</i>		2				
<i>Pleura</i>				2		
<i>Rippe</i>				1		
<i>Knie</i>				1		
<i>Sprunggelenk</i>	1					
<i>Hals</i>	2					
<i>Wirbel</i>				1		
<i>Hinterextremität</i>			1			
<i>Becken</i>				2		
<i>Schwanz</i>				1		
<i>Muskel</i>				1		

TABELLE 3

DIFFERENZIERUNG DER NAHRUNGSMITTELTECHNOL. WICHTIGSTEN PSEUDOMONAS SSP

	<i>peruginosa</i>	<i>fluorescens</i>	<i>putrefaciens</i>	<i>chlororaphis</i>
	<i>Pseudomonas</i>			
Beweglichkeit	+	+	+	+
Wachstum bei 5 °C	-	+	+	+
Wachstum bei 37 °C	+	+	+	+
Wachstum bei 42 °C	+	-	+	-
Pigmentbildung	+	+	-	+
Fluoreszenz	+	+	-	+
Levanbildung	-	+		+
Argininspaltung	+	+	-	
Gelatineverflüssigung	+	+	+	+
Kaseinabbau	+	+	+	+
Fettspaltung	+	+	+	
O-F-Test, Glucose	0	0	0	0
Maltose	-	+	-	
Laktose	-	-	+	
Mannit	±	+		
Stärke	-	-	-	-
Katalase	+			
Nitratreduktion	+	+		
Indolbildungsvermögen	-			
H ₂ S-Bildung	-	-	+	-
Harnstoffspaltung	+	+		
Zitronensäure	+	+	-	
Wachstum in 3 % Cl	+	+	+	+
Wachstum in 7 % Cl	-	-	+	-

Zeichenerklärung :

- + positiv bei 90 % der Stämme
- negativ bei 90 % der Stämme
- ± überwiegend positiv (70 %)
- ± überwiegend negativ (70 %)
- 0 oxidativ

TABELLE 4

ERGEBNISSE (AUSWERTUNG von 146 STÄMMEN)

T E S T E				Stämme	
				positiv	negativ
Beweglichkeit				146	
Wachstum bei 5° C					146
Wachstum bei 37° C				146	
Wachstum bei 42° C				146	
Fluoreszenzbildung				144	2
chloroformlösliches Pyocyamin				132	14
<u>Spaltungen von</u> :					
Arginin				146	
Gelatine				146	
Kasein				146	
Tributyrin				146	
Glucose, oxidativ				146	
Glucose, fermentativ					146
Maltose					146
Laktose					146
Mannit				170	36
Stärke					146
Harnstoff				146	
Citrat				146	
Nitratreduktion				146	
Katalase				146	
Indolbildung					146
Schwefelwasserstoffbildung					146
Levanbildung				7	145
<u>Wachstum in</u> :					
4 % Na Cl	Bouillon			146	
5 % Na Cl	"			128	18
6 % Na Cl	"			22	124
6 1/2 % Na Cl	"			8	138
7 % Na Cl	"				146
8 % Na Cl	Agar			146	
10 % Na Cl	"			120	26
12 % Na Cl	"			13	133
13 % Na Cl	"			3	143
14 % Na Cl	"				146

TABELLE 5

FARBSTOFFBILDUNG :

I auf King A - Agar

II in King A Boullion

Farbe	Anzahl der Stämme	Farbe	Anzahl der Stämme
grünlich	70	hellgrün	64
dunkelgrün	28	dunkelgrün	52
blaugrün	10	blaugrün	27
braunlich	22	farblos	3
gelblich	3		
cremefarben	4		
farblos	9		

TABELLE 6

ANTIBIOTICA - TESTE

Stamm Nr.	Neomycin (30 μ)	Colistin (50 μ)	Polymyxin B (300 μ E.)	Streptomycin (70 μ)		Stamm Nr.	Neomycin (30 μ)	Colistin (50 μ)	Polymyxin B (300 μ E.)	Streptomycin (70 μ)
1	49	374	183	85	mm ²	40	95	186	133	79
2	254	227	207	79		41	154	154	154	133
3	173	207	154	79		42	173	227	133	79
4	79	186	133	79		43	133	207	133	79
5	133	227	186	67		45	173	207	133	95
6	173	283	186	67		47	415	207	133	154
7	50	173	154	—		48	173	154	183	—
8	79	254	173	79		49	79	227	133	—
9	154	227	154	—		50	95	227	133	67
10	133	207	173	67		51	173	254	133	79
11	173	207	154	133		53	95	154	133	79
12	173	227	173	67		54	186	186	173	207
13	133	207	186	79		55	173	186	133	79
15	133	254	133	95		56	50	254	173	79
16	173	227	133	67		57	173	207	173	95
17	173	227	173	79		58	186	254	154	133
18	154	283	154	67		59	79	186	133	50
19	173	254	173	67		60	173	227	154	67
20	95	207	133	79		61	95	207	154	79
21	79	207	186	95		62	79	207	133	67
22	154	186	186	154		63	173	207	133	67
23	79	207	154	50		65	79	207	154	50
24	173	254	154	79		66	95	207	173	95
25	173	207	154	95		67	95	227	133	95
26	173	254	173	95		68	67	133	133	133
27	133	207	173	79		69	173	283	154	79
29	154	207	133	67		70	133	227	186	79
30	133	207	154	95		71	186	207	186	67
31	173	207	154	67		73	173	154	133	67
32	95	154	133	95		74	173	227	154	133
33	173	207	133	79		78	133	154	133	95
34	173	227	173	67		79	79	133	154	—
35	173	186	133	95		81	154	186	133	133
36	207	207	133	95		82	133	173	173	50
37	186	254	186	79		83	79	207	154	67
38	133	227	154	67		84	79	186	133	79
39	173	173	173	173		85	133	154	173	133

ANTIBIOTICA - TESTE

Stamm Nr.	Neomycin (30 μ g)	Colistin (50 μ g)	Polymyxin B (300 μ E)	Streptomycin (70 μ g)		Stamm Nr.	Neomycin (30 μ g)	Colistin (50 μ g)	Polymyxin B (300 μ E)	Streptomycin (70 μ g)
87	95	201	773	79	mm ²	128	173	227	733	67
88	733	201	733	773		130	201	254	201	95
89	754	227	786	95		131	754	283	754	773
90	254	227	754	773		132	733	201	733	773
91	786	227	773	67		133	786	254	754	95
92	754	227	754	67		134	773	786	754	95
93	754	227	786	95		135	773	733	733	773
95	773	733	754	733		136	754	201	754	79
96	227	754	733	227		137	733	227	786	95
97	754	786	754	201		138	773	773	773	79
98	79	786	733	79		139	786	786	754	773
99	95	786	733	773		141	786	786	754	754
100	773	786	773	79		142	786	786	754	733
101	733	201	754	67		143	754	227	786	733
102	754	227	754	50		144	754	227	754	773
104	254	283	786	79		145	754	786	754	79
105	754	227	754	95		146	773	201	786	773
106	95	754	733	773		147	786	227	786	733
107	95	773	773	95		148	754	227	754	773
108	254	374	227	79		149	79	283	786	79
109	733	201	733	773		150	754	227	754	95
110	773	786	733	67		151	786	786	754	95
112	773	786	733	79		152	786	374	786	95
113	227	201	773	773		153	754	201	786	79
114	201	786	773	79		155	227	283	227	227
115	786	786	754	201		156	786	786	754	773
118	491	786	733	283		157	227	786	754	227
119	786	227	786	79		158	754	754	754	95
120	227	227	786	773		159	283	254	227	786
121	79	754	773	67		160	733	254	786	733
122	95	786	733	-		161	773	374	201	95
123	773	786	733	733		162	773	201	733	95
124	773	201	733	79		163	201	227	786	754
125	733	227	733	95		164	754	754	733	79
126	95	283	773	67		165	786	786	733	95
127	786	754	733	754		166	733	201	754	754

EIGENE HEMMSTOFFPRODUKTION

Simultanbeimpfung Hemmzone in mm ²					24 stündige Vorbebrütung ausgedrückt als Vielfaches des 1. Hemmwertes bzw. in mm ²					48 stündige Vorbebrütung ausgedrückt als Vielfaches des 1. Hemmwertes				
<i>Bacillus subtilis</i> (B.G.A.)	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> Stamm Nr. 7	<i>Escherichia coli</i>	<i>Micrococcus Varians</i> 53	<i>Bac. subtilis</i> (B.G.A.)	<i>Bac. cereus</i>	<i>Staph. aureus</i> Stamm Nr. 7	<i>E. coli</i>	<i>Micrococcus Varians</i> 53	<i>Bac. subtilis</i> (B.G.A.)	<i>Bac. cereus</i>	<i>Staph. aureus</i> Stamm Nr. 7	<i>E. coli</i>	<i>Micrococcus Varians</i> 53
50	0	0	0	28	74	154	374	154	4	60	6	7	3	16
254	50	79	773	73	4	6	6	5	24	9	25	79	70	78
79	0	0	0	0	8	615	254	374	380	16	7	7	7	7
73	73	0	0	79	62	35	704	374	5	107	54	2	7	8
754	0	28	79	73	8	449	22	4	41	14	7	45	5	47
254	50	773	50	73	3	8	3	9	24	8	23	3	20	777
254	0	0	0	0	4	449	804	907	380	5	3	7	2	4
173	73	0	0	0	77	29	707	707	537	76	97	2	2	3
754	0	28	50	50	8	449	25	78	74	74	2	47	78	25
374	73	73	28	0	2	24	35	29	675	70	203	799	82	4
754	0	0	0	0	7	380	707	675	537	73	2	7	7	2
207	0	28	73	0	6	449	29	47	374	72	2	50	54	3
50	0	73	0	0	20	449	44	804	449	49	3	29	7	3
207	0	0	73	0	6	380	675	29	374	74	2	7	47	7
754	0	0	0	73	7	374	537	374	76	72	7	2	7	47
50	0	773	0	0	72	374	3	254	374	76	7	5	7	2
28	0	50	773	0	36	374	72	3	24	69	4	25	6	47
73	28	0	0	0	78	76	374	380	380	757	47	3	2	7
754	28	28	773	50	8	74	77	6	7	45	59	77	8	
754	73	73	28	73	5	35	54	76	62	9	157	763	65	775
773	0	0	0	0	6	254	449	374	374	22	2	2	2	2
28	73	28	374	73	47	35	22	4	47	775	707	65	4	69
254	73	28	73	28	8	47	45	47	76	70	97	54	54	29
773	73	73	374	28	74	35	37	3	79	23	722	203	4	25
0	0	28	754	73	0	675	74	3	29	0	2	79	4	47
28	0	73	0	0	77	374	29	254	254	47	2	54	7	2
50	73	50	754	0	27	35	72	3	254	57	47	27	5	7
73	0	0	773	28	47	449	537	5	22	777	2	7	5	22
28	28	773	50	73	25	79	70	74	24	47	54	72	78	54
773	73	0	0	0	74	35	537	449	380	94	78	7	7	7
73	0	50	0	0	777	675	73	804	675	263	3	33	2	2
754	73	73	773	73	8	35	47	7	24	9	35	47	7	29
207	73	50	73	28	4	24	76	24	4	74	35	23	35	77
754	73	50	79	28	5	20	9	8	76	73	97	43	77	22
77	50	73	28	28	0	12	54	25	79	707	33	777	36	2
754	73	773	73	73	73	47	7	47	74	77	97	9	87	22
207	0	50	0	0	4	675	74	449	537	8	2	25	2	7
0	254	0	50	79	5	449	74	78	70	70	4	43	64	40
47	79	0	0	50	10	449	707	77	449	78	4	3	72	2
62	754	28	79	773	8	76	9	4	5	20	45	74	4	73
73	380	73	0	0	2	44	804	707	675	5	62	2	7	2
75	374	28	50	0	4	76	7	380	207	7	22	9	7	7

EIGENE HEMMSTOFFPRODUKTION

Stamm Nr.	Simultankontamination Hemmzone in mm ²					24 stündige Vorbebrütung ausgedrückt als Vielfaches des 1. Hemmwerkes bzw. in mm ²					48 stündige Vorbebrütung ausgedrückt als Vielfaches des 1. Hemmwerkes				
	Bac. subtilis (BGA)	Bac. cereus	Staph. aureus Stamm Nr. 7	E. coli	Micrococcus Varians 53	Bac. subtilis (BGA)	Bac. cereus	Staph. aureus, Stamm Nr. 7	E. coli	Micrococcus Varians 53	Bac. subtilis (BGA)	Bac. cereus	Staph. aureus, Stamm Nr. 7	E. coli	Micrococcus Varians 53
73	73	73	0	28	0	97	29	337	70	676	763	69	2	25	7
0	73	73	50	73	28	1809	62	35	69	25	177	177	43	139	41
79	0	0	28	0	0	1	449	22	207	314	3	2	70	2	4
28	0	0	0	0	0	2	449	13	13	13	4	2	7	1	74
773	0	79	79	50	0	8	449	13	13	13	4	2	7	1	74
50	73	0	73	73	0	72	62	13	13	13	4	2	7	1	74
50	73	28	0	0	0	8	9	13	13	13	4	2	7	1	74
773	0	0	28	0	0	9	449	13	13	13	4	2	7	1	74
207	50	28	50	50	18	8	9	13	13	13	4	2	7	1	74
73	0	0	0	0	0	54	374	100	207	207	13	28	32	23	46
28	73	79	0	0	0	32	35	13	13	13	4	2	7	1	74
28	28	28	73	73	0	54	70	13	13	13	4	2	7	1	74
754	50	50	28	73	0	7	74	13	13	13	4	2	7	1	74
380	28	73	50	50	18	12	13	13	13	13	4	2	7	1	74
773	73	73	754	79	19	4	29	13	13	13	4	2	7	1	74
754	73	28	0	0	0	75	54	5	357	357	13	28	32	23	46
79	0	0	0	0	0	78	707	380	207	207	13	28	32	23	46
754	28	50	0	0	0	5	79	13	13	13	4	2	7	1	74
773	73	28	50	0	0	18	13	13	13	13	4	2	7	1	74
754	50	79	773	73	28	0	29	13	13	13	4	2	7	1	74
79	73	28	73	73	28	0	29	13	13	13	4	2	7	1	74
28	0	79	28	28	28	66	707	13	32	3	32	1	19	65	29
79	73	28	73	73	73	16	35	12	69	19	36	177	54	139	54
73	754	73	50	28	13	7	97	12	12	14	18	139	39	45	35
773	73	28	28	13	13	71	76	14	16	17	22	28	29	5	62
79	0	73	79	13	73	76	675	14	14	14	16	3	176	33	117
79	73	73	28	50	71	71	24	20	19	9	13	54	35	22	20
374	0	50	79	0	0	0	707	13	9	675	9	2	30	17	2
82	50	73	50	28	0	36	24	72	76	380	46	35	76	22	2
83	773	73	50	754	73	77	54	18	3	62	20	728	33	28	78
84	207	28	50	50	28	7	72	9	76	25	76	36	77	25	50
85	254	73	0	0	0	71	14	14	207	707	73	739	2	2	7
87	207	50	50	73	26	5	6	17	29	16	9	9	72	47	29
88	50	28	28	0	13	25	74	16	254	29	49	79	70	7	739
89	79	73	28	28	50	37	27	62	79	9	36	47	45	25	74
90	28	773	50	73	28	79	4	8	20	9	50	9	39	69	16
91	79	28	79	50	13	8	19	8	9	24	79	25	77	78	47
92	50	73	0	28	73	25	47	380	76	47	49	757	7	70	777
93	773	754	28	0	0	74	7	16	537	380	32	74	82	3	3
95	28	28	50	50	73	36	25	12	72	35	137	70	57	39	163
96	773	50	28	73	0	76	18	22	47	707	25	28	70	97	2
97	50	28	28	73	73	25	79	76	62	47	39	47	107	739	47

EIGENE HEMMSTOFFPRODUKTION

	Simultanbeimpfung Hemmzone in mm ²					24 stündige Vorbebrütung ausgedrückt als Vielfaches des 7. Hemmwerter bzw. in mm ²					48 stündige Vorbebrütung ausgedrückt als Vielfaches des 7. Hemmwerter				
	Bac. subtilis (BGA)	Bac. cereus	Staph. aureus Stamm Nr. 7	E. coli	Micrococcus Varians 53	Bac. subtilis (BGA)	Bac. cereus	Staph. aureus Stamm Nr. 7	E. coli	Micrococcus Varians 53	Bac. subtilis (BGA)	Bac. cereus	Staph. aureus Stamm Nr. 7	E. coli	Micrococcus Varians 53
118	773	28	50	73	28	6	22	74	97	19	32	45	46	128	32
119	79	79	773	73	73	79	7	5	54	47	36	79	20	763	707
120	754	50	0	28	0	7	12	804	79	449	73	30	4	65	3
121	254	28	73	50	0	5	22	62	12	537	77	65	203	46	2
122	773	79	73	50	73	77	8	41	9	35	25	78	247	36	777
123	374	50	73	50	0	4	12	87	78	804	99	25	789	30	2
124	73	73	0	0	73	69	47	675	380	24	247	87	2	2	43
125	254	0	28	73	73	6	707	29	62	24	8	7	65	128	78
126	207	28	50	0	0	8	36	25	675	707	76	50	43	3	3
127	754	50	28	73	79	6	76	36	41	8	73	20	88	97	78
128	73	0	50	754	28	97	907	78	5	29	275	2	53	73	45
129	374	73	50	28	50	4	62	25	22	16	8	78	36	50	76
130	754	28	73	73	73	3	7	72	9	9	8	77	54	69	47
131	50	50	79	73	28	23	12	77	76	77	59	25	37	707	45
132	28	73	28	28	0	45	78	45	76	537	707	87	94	65	2
133	374	50	50	50	28	7	78	23	72	74	7	26	53	28	32
134	374	73	0	0	73	4	69	907	707	62	6	97	2	2	69
135	254	754	79	28	73	5	6	73	76	47	9	70	36	70	62
136	50	28	754	0	0	78	32	4	537	537	73	70	20	2	3
137	28	73	50	73	73	59	62	72	54	47	70	777	39	728	777
138	773	28	773	73	754	8	74	3	24	3	29	47	25	87	8
139	50	79	0	73	0	9	4	537	20	74	7	7	2	69	7
140	28	0	0	73	28	76	207	50	12	4	54	6	39	97	32
141	73	50	28	50	0	54	77	6	5	374	757	28	65	78	7
142	754	50	0	0	0	5	9	754	254	74	23	75	4	77	77
143	28	0	0	73	28	36	449	773	76	74	65	3	23	97	36
144	50	0	754	773	79	18	675	5	3	6	43	3	78	74	76
145	79	28	50	79	73	10	79	72	9	29	76	45	30	79	54
146	754	50	28	73	0	5	5	4	4	154	70	6	76	29	2
147	754	773	79	73	73	4	5	7	41	47	75	72	46	739	97
148	754	0	0	0	0	3	449	675	449	380	73	2	3	2	2
149	773	28	50	73	73	3	7	3	76	72	8	74	74	54	24
150	50	50	73	0	0	16	74	29	804	804	39	25	763	2	7
151	79	79	754	73	0	7	8	4	29	449	25	74	72	69	7
152	50	28	0	50	79	33	22	254	9	7	77	65	73	46	23
153	380	754	79	50	0	4	7	17	74	77	6	73	46	43	25
154	207	773	28	73	0	3	4	76	24	254	39	97	76	3	6
155	50	73	28	0	0	27	47	79	380	374	39	97	76	3	6
156	79	50	28	50	50	74	78	76	77	72	25	30	777	43	78
157	374	79	28	73	0	3	70	22	41	675	72	27	707	707	2
158	374	50	0	73	0	4	77	77	380	24	6	76	4	47	2
159	374	28	73	73	28	5	25	47	87	32	7	70	277	776	59

EIGENE HEMMSTOFFPRODUKTION

Stamm Nr.	Simultanbeimpfung Hemmzone in mm ²					24 stündige Vorbebrütung ausgedrückt als Vielfaches des 7. Hemmwerthes bzw. in mm ²					48 stündige Vorbebrütung ausgedrückt als Vielfache des 7. Hemmwerthes				
	Bac. subtilis (BGA)	Bac. cereus	Staph. aureus Stamm Nr. 7	E. coli	Micrococcus Varians 53	Bac. subtilis (BGA)	Bac. cereus	Staph. aureus Stamm Nr. 7	E. coli	Micrococcus Varians 53	Bac. subtilis (BGA)	Bac. cereus	Staph. aureus Stamm Nr. 7	E. coli	Micrococcus Varians 53
746	754	50	79	79	50	7	17	70	7	8	24	30	37	76	44
747	201	73	50	73	28	5	35	14	29	17	5	54	39	69	21
748	154	28	73	73	0	7	25	54	47	380	25	70	296	97	13
749	254	73	0	0	0	5	47	707	449	675	74	97	3	4	2
750	79	0	0	0	0	15	804	907	449	537	79	2	3	3	1
751	154	73	73	28	0	7	35	47	19	537	8	69	97	45	7
752	173	79	50	73	28	11	9	74	54	16	74	78	36	757	50
753	50	28	79	754	73	18	79	73	4	41	74	78	36	757	50
755	773	50	79	28	0	7	12	10	22	449	57	70	37	73	75
756	50	50	79	73	28	9	9	70	47	22	22	25	33	65	3
757	79	50	28	73	73	74	17	22	54	47	39	28	33	777	29
758	773	73	73	73	28	16	62	54	62	22	79	78	70	69	70
759	254	73	28	50	0	4	35	79	17	804	34	74	240	763	707
760	754	0	73	0	0	7	675	54	449	449	24	728	50	78	7
761	374	50	28	73	0	4	77	79	29	449	4	16	36	54	2
762	207	79	73	28	0	5	5	47	25	537	72	25	176	76	3
763	28	50	0	0	0	76	6	737	254	754	36	9	2	7	2
764	50	28	73	0	0	76	22	54	374	449	33	50	763	6	2
765	28	50	0	0	73	75	8	449	380	24	70	39	5	4	73
766	50	28	73	28	0	20	32	62	19	449	53	36	28	45	2

D. D i s k u s s i o n

Vom 1. Januar bis 31. Dezember 1973 wurden bei der bakteriologischen Fleischuntersuchung am Städtischen Schlachthof München alle als *Pseudomonas* identifizierten Stämme (166) freundlicherweise für diese Arbeit zurückgelegt.

Bei der jahreszeitlichen Verteilung der 146 Reinkulturen war in den Monaten Mai, Juni, Juli, September und Oktober ein erhöhtes Auftreten zu beobachten, der aber nicht allzuviel Aussagekraft beigemessen werden sollte. Es wäre zu bedenken, daß durch den häufigen Dienstwechsel der Kollegen beim bakteriologischen Dienst, ebenso durch die Urlaubszeit und die damit verbundenen Ausfälle und Umbesetzungen nicht alle Keime zurückgelegt wurden.

130 Tiere, aus denen entsprechend viele Stämme isoliert wurden, teilten sich auf in 65 Kälber, 24 Kühe, 4 Bullen, 32 Schweine, 2 Schafe und 3 Pferde. Beim Kalb wurden insgesamt 99 Diagnosen gestellt, bei der Kuh 39, beim Bullen 6, beim Schwein 40, beim Schaf 2 und beim Pferd 6. Die Pneumonie stand beim Kalb und beim Schwein mit 45 bzw. 10 Fällen weit an der Spitze. Mastitis und Peritonitis dominierten bei der Kuh.

Bei der Auswahl der Tests zur Differenzierung wurden besonders die biochemischen Eigenschaften von *Pseudomonas*-Spezies berücksichtigt, die in Lebensmitteln tierischen Ursprungs vorkommen. Von den ursprünglich 166 Stämmen konnten

20 wegen starker Verunreinigung nicht weiter differenziert werden. Bei den restlichen 146 Stämmen handelte es sich ausschließlich um "Pseudomonas aeruginosa", von denen 90,4 % den blauen Farbstoff Pyocyanin und 98,6 % Fluorescein zu bilden vermochten. Das Vorkommen weiterer Pigmente war durch Farbenvielfalt der Kulturen zu erkennen.

Alle 146 *Pseudomonas aeruginosa*-Stämme vermochten Hemmstoffe zu bilden. Bei Simultanbeimpfung zeigte *Bacillus subtilis* (BGA) eine durchschnittliche Hemmfläche von 132 mm^2 (es wurden Flächen von $0 - 380 \text{ mm}^2$ festgestellt), *Bacillus cereus* von 27 mm^2 ($0 - 154 \text{ mm}^2$), *Staphylococcus aureus*, Stamm Nr. 7 von 34 mm^2 ($0 - 154 \text{ mm}^2$), *Escherichia coli* von 35 mm^2 ($0 - 314 \text{ mm}^2$) und *Micrococcus varians* 53 von 17 mm^2 ($0 - 154 \text{ mm}^2$).

Bei 24- bzw. 48-stündiger Vorbebrütung der *Pseudomonas-aeruginosa*-Stämme vergrößerte sich im Durchschnitt die Hemmfläche bei *Bac. subtilis* um das 8- bzw. 17-fache, bei *Bac. cereus* um das 21- bzw. 45-fache, bei *Staph. aureus* um das 19- bzw. 55-fache, bei *E. coli* um das 16- bzw. 35-fache und bei *Micrococcus varians* um das 36- bzw. 63-fache. Im Hinblick auf das Vorkommen von Bacteriocinen entsteht die Frage, inwieweit der heutige *Bacillus subtilis*-Test (BGA) tragbare Ergebnisse liefert, die auf eine Antibiotika- und/oder Hemmstoffbehandlung schließen lassen. Auch wäre noch zu untersuchen, ob die Kulturen, die heutzutage zur Beschleunigung der Rohwurstreifung Verwendung finden, von *Pseudomonas aeruginosa* gehemmt werden. Andererseits aber drängt sich die Frage auf, ob die wenigen *Pseudomonaden*

überhaupt relevant sind, wenn man bedenkt, daß im Jahre 1973 im Städtischen Schlachthof München rund 418.000 Tiere geschlachtet wurden. Zur Bakteriologischen Untersuchung kamen ca. 18.300 Tiere, wobei in dieser Anzahl auch die Tiere aus den Einzugsgebieten des Schlachthofes enthalten sind. Es wurden also in weniger als 1 % der "B.U.-Tiere" Pseudomonaden nachgewiesen.

Beim Resistenztest konnte volle Empfindlichkeit gegenüber Neomycin, ebenso gegenüber Polymyxin B und Colistin festgestellt werden. Gegenüber Streptomycin zeigten sich 4,1 % der Stämme resistent. Gegen Oxytetracyclin waren nur zwei, gegen Chloramphenicol nur eine Kultur empfindlich. Die Hemmhöfe hatten bei Neomycin im Durchschnitt eine Fläche von 141, bei Polymyxin B von 146, bei Colistin von 207 und bei Streptomycin von 98 mm².

E. Zusammenfassung

1. 146 *Pseudomonas*-Stämme aus Proben der bakteriologischen Fleischuntersuchung wurden biochemisch differenziert, mit sechs Antibiotika wurde ein Resistenztest durchgeführt und die Bildung eigener Hemmstoffe (Bacteriocine) getestet.
2. Das Differenzierungsergebnis lautete "*Pseudomonas aeruginosa*".
3. Alle Stämme waren für Neomycin, Polymyxin B und Colistin, 140 Stämme für Streptomycin empfindlich. Bis auf einen bzw. zwei Stämme trat bei Chloramphenicol und Oxytetracyclin völlige Resistenz auf.
4. Eine Wachstumshemmung wurde von allen Stämmen bei *Bacillus subtilis* (BGA), *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, Stamm Nr. 7, *Escherichia coli* und *Micrococcus varians* 53 verursacht.
5. Es wird bezweifelt, daß der *Bacillus subtilis*-Test (BGA) in seiner derzeit vorgeschriebenen Form nur dann positiv ausfällt, wenn eine Antibiotika- und/oder Hemmstoffbehandlung erfolgt ist.

S u m m a r y

1. 146 *Pseudomonas* strains originating from the bacteriological meat-examination were differentiated by biochemical means. Their sensitivity was tested against six antibiotics and also the production of inhibiting substances (Bacteriocines) was investigated.
2. The results of the differentiation revealed the fact, that all strains belonged to the species "*Pseudomonas aeruginosa*".
3. All strains were sensitive, when tested against Neomycin, Polymyxin B, and Colistin. 140 strains in addition were sensitive regarding Streptomycin, except one resp. two specimens, all strains were completely resistant to Chloramphenicol and Oxytetracycline.
4. A variety of other bacteria such as *Bacillus subtilis* (BGA), *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* (strain No. 7), *Escherichia coli*, *Micrococcus varians* 53 were growth inhibited by all strains of *Pseudomonas aeruginosa* tested.
5. There are some doubts, that the *Bacillus-subtilis*-test used as described by the Federal Health Service is only positiv, if an antibiotic- and/or chemotherapeutic therapy has been applied.

F. L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

1. A n d r i e u , G., J. M o n n i e r e t R. B o u r s e :
La sensibilité du bacille pyocyaneus
aux agents antibactériens d'utilisation
clinique.
Ann.Inst.Pasteur 92 (1957), 176.
2. A y r e s , J.C.: The relationship of organisms of the
genus pseudomonas to the spoilage of
meat, poultry und eggs.
J. appl.Bact. 23 (1960), 471.
3. B a d e r , R.E. und G. H o t z :
Eisen- Harnstoff-Agar, eine Modifikation
des Eisen-Agars nach Kligler.
Z. Hyg. 133 (1951), 20.
4. B e e r , R.: Zur Diagnostik gramnegativer aerober
Stäbchen.
Pathologia Microbiol. 26 (1963), 607.
5. B e r g m a n n , S. und R. G r u b b :
Chemotherapie der Pyocyaneus-Infektion.
Nordisk med. 48 (1952), 1403.
6. B e r n s t e i n , A. und H. R e b e r :
Klinisch- experimentelle Untersuchungen
zur Terramycin-Therapie.
Schweiz. Med. Wschr. 81 (1951), 17, 402.
7. B o u r g a i n , M., P.H. B o n n e l e t C. R a b y :
Les Pseudomonadaceae, agents de souillure
fréquent des produits biologiques d'origine
sanguine.
Ann.Inst.Pasteur 95 (1958), 361.

8. B r a d l e y , D.E.:
Ultrastructure of bacteriophages and bacteriocins.
Bact. Reviews 31 (1967), 230.
9. B r a n d i s , H. und J. S m a r d a :
Bacteriocine und bacteriocinähnliche Substanzen.
VEB Gustav Fischer Verlag Jena (1971).
10. B r e e d , R.S., E.G.O. M u r r a y , and N.R. S m i t h :
Bergey's Manual of determinative bacteriology.
7. Aufl., Williams u. Wilkins, Baltimore 1 (1957).
11. B u r t o n , H.S. and B.A. W a i s b r e n :
Comparative action of aureomycin, chloromycetin, Q₁₉ and polymyxin, against gram-negative bacilli.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med.N.Y. 74 (1950), 35.
12. B u s s e , M.: Die Bedeutung der kältetoleranten Keime für die Milchwirtschaft.
Dtsch. Molkerei-Ztg. 90 (1969), 427.
13. C a m p , B.J. and W.C. V a n D e r Z a n t :
Proteolytic enzymes from Pseudomonas putrefaciens. II. Characteristics of an endocellularproteolytic enzyme system.
Food Research 22 (1957), 158.
14. C a s e l i t z , F.-H.:
Pseudomonas-Aeromonas und ihre humanmedizinische Bedeutung.
VEB Gustav Fischer Verlag Jena (1966).

15. C h r i s t e n s e n , W.B. :
Urea decomposition as a means of differentiating *Proteus* and paracolon cultures from each other and from *Salmonella* and *Shigella* types.
J. Bact. 52 (1946), 461.
16. C h r i s t i e , R. and L.P. G a r r o d :
A review of a penicillin therapeutic research.
Unit. Brit. Med. J. I (1954), 513.
17. C l a y d o n , T.J. :
A skunk-like odor of bacterial origin in farm-separated cream.
Dairy Science 31 (1948), 725.
18. C o l e b r o o k , L. :
The control of infection in burns.
Lancet 1 (1948), 893.
19. C o l w e l l , R.R. :
A study of features used in the diagnosis of *Pseudomonas aeruginosa*.
J. gen. Microbiol. 37 (1964), 181.
20. C o w a n , S.T. and K.J. S t e e l :
Manual of the identification of medical bacteria.
University Press, Cambridge 1 (1965), 71.
21. C u r t i n , J.A., R.G. P e t e r s d o r f f , and
J.R. B e n n e t :
Pseudomonas bacteriemia.
Review of ninety-one cases.
Ann. Inst. Med. 54 (1961), 1077.

22. D a r r e l l, J.H. and A.H. W a h b a :
Pyocine-typing of hospital strains of
Pseudomonas pyocyanea.
J. clin. Path. 17 (1964), 236.
23. D o u d o r o f f, M. and R.Y. S t a n i e r :
Role of poly- β -hydroxybutyric acid in
the assimilation of organic carbon by
bacteria.
Nature, Lond. 183 (1959), 1440.
24. D u n c a n, G.G., C.F. C l a n y, J.R. W o l g a m o t,
and B. B e i d l e m a n :
Neomycin: Results of clinical use in
ten cases.
J. Amer. Med. Ass. 145 (1951), 75.
25. E d d y, B.P. :
The use and meaning of the term "psychro-
philic".
J. appl. Bact. 23 (1960), 189.
26. E l l e r, C. :
Herellea und *Pseudomonas ovalis* aus ge-
frorenen Lebensmitteln.
Appl. Microbiol. 17 (1969), 26.
27. E l l i o t t, R.P., R.P. S t r a k a, and J.A. G a r i -
b a l d i :
Das Verderben von Eiern in der Schale durch
Pseudomonas.
Appl. Microbiol. 2 (1954), 158.
28. E m p e y, W.A. and W.J. S c o t t :
Investigations on chilled beef.
Part I. Microbial contamination acquired
in the meatworks.
C.S.J.R. Bull. Melbourne 126 (1939)

29. Fairbrother, R.W., G. Martyn, and
L. Parker:
The laboratory control of antibiotic
therapy.
Lancet II (1951), 516.
30. Fränkel, E.: Über die Menschenpathogenität des
Bacillus pyocyaneus.
Ztschr. Hyg. 72 (1912), 486.
31. Frazier, W.C.:
Food microbiology.
Mc Graw - Hill Book Company (1967).
32. Frazier, W.C.:
A method for the detection of changes
in gelatin due to bacteria.
J. infect. Dis. 39 (1926), 302.
33. Frazier, W.C. and P. Rupp:
Studies on the proteolytic bacteria of
milk. I. A medium for the direct isolation
of caseolytic milk bacteria.
J. Bact. 16 (1928), 57.
34. Geiger, G., W. Kundrat und J. Püschner:
Zum Vorkommen von Pseudomonas chlororaphis
in Kälberlebern.
Die Fleischwirtschaft 12 (1968), 1676.
35. Gessard, C.: Nouvelles recherches sur le microbe
pyocyanique.
Ann. Inst. Pasteur 34 (1920), 88.
36. Gillardi, G.L.:
Characterization of pseudomonas species
isolated from clinical specimens.
Appl. Microbiol. 21 (1971), 414.

37. Gillies, R.R. and J.R.W. Govan :
Typing of *Pseudomonas pyocyanea* by
pyocine production.
J. Path. Bact. 91 (1966), 339.
38. Graevenitz, A. and G. Simon :
Potentially pathogenic, nonfermentative,
 H_2S -producing gram-negative rod.
Appl. Microbiol. 19 (1970), 176.
39. Gray, P.H.H.: The formation of indigotin from indole
by soil bacteria.
Proc. R. Soc. B 102 (1928), 263.
40. Grün, E.: Herkunft und Wirkung von *Pseudomonas*
pyocyanea in der Milch.
Milchwirtschaft 24 (1969), 14.
41. Haines, R.B.:
Observations on the bacterial flora of
the hen's egg, with a description of new
species of *Proteus* and *Pseudomonas* causing
rot in eggs.
J. Hyg. 38 (1938), 338.
42. Hamamura, N.:
Studies on Pyocin. I. Distribution of
pyocinogenic strains among *Pseudomonas*
aeruginosa.
Virus (Osaka) 12 (1962), 194.
43. Hamon, Y.: Contribution à l'étude des pyocines.
Ann. Inst. Pasteur 91 (1956), 82.
44. Hauck, S.: Bakteriologische Untersuchungen über
Kanamycin.
Ztsch. Hyg. 146 (1960), 433.

45. H a y n e s, W.C.: *Pseudomonas aeruginosa* - its
characterization and identification.
J.gen.Microbiol. 5 (1951), 939.
46. H a y n e s, W.C. and L.J. R h o d e s :
Comparative taxonomy of crystallogenic
strains of *Pseudomonas aeruginosa* and
Pseudomonas chlororaphis.
J.Bact. 84 (1962), 1080.
47. H a y s, E.E., I.C. W e l l s, F.A. K a t z m a n n,
C.K. C a i n, F.A. J a c o b s, S.A. T h a y e r,
E.A. D o i s y, W.L. G a b y, E.C. R o b e r t s,
R.D. M u i r, C.J. C a r r o l l, L.R. J o n e s,
and N.J. W a d e :
Antibiotic substances produced by *Pseu-*
domonas aeruginosa.
J. Biol. Chem. 159 (1945), 725.
48. H e n d r i e, M.S. and J.M. S h e w a n :
The identification of certain *Pseudo-*
monas species.
Identification methods for microbiologists.
ed. by B.M. Gibbs and F.A. Skinner
Academic Press, Part A (1966), 1.
49. H e n n e b e r g, G. und F.W. M ü l l e r :
Über die Chemotherapieresistenz der
Pseudomonas aeruginosa.
Zbl. Bakt. I. Orig. 161 (1954), 183.
50. H e s s, E.:
Kontamination während und nach der
Schlachtung.
World Assoc. Vet. Food Hygienists,
Opatija (1969)

51. H i r s c h, J.: Antibiotica in vivo et in vitro.
Mtschr. Kinderheilk. 99 (1951), 5.
52. H o l l o w a y, B.W.:
Grouping *Pseudomonas aeruginosa* by
lysogenicity and pyocinogenicity.
J. Path. Bact. 80 (1960), 448.
53. H u g h, R. and E. L e i f s o n :
The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various Gram-negative bacteria.
J. Bact. 66 (1953), 24.
54. H u l t s c h, M.: Versuche zur Isolierung von *Pseudomonas*-stämmen aus Lebensmittelprodukten.
Mh. Vet. Med. 17 (1962), 786.
55. J a c o b, F.: Biosynthèse induite et mode d'action d'une pyocin antibiotique de *Pseudomonas pyocyanea*.
Ann. Inst. Pasteur 86 (1954), 149.
56. J e s s e n, O.: *Pseudomonas aeruginosa* and other green fluorescent pseudomonads.
Diss. Copenhagen (1965).
57. K i e l w e i n, G.:
Pseudomonaden und *Aeromonaden* in Trinkmilch: Ihr Nachweis und ihre Bewertung.
Arch. Lebensmittel-Hyg. 22 (1971), 15.
58. K i e l w e i n, G.:
Die Isolierung und Differenzierung von *Pseudomonaden* aus Lebensmitteln.
Arch. Lebensmittel-Hyg. 22 (1971), 9.

59. K i e l w e i n, G.:
Klassifizierung der Gattung *Pseudomonas*
und *Aeromonas*.
Arch. Lebensmittel-Hyg. 23 (1972), 281.
60. K i n g, E.O., M.K. W a r d, and D.E. R a n e y :
Two simple media for the demonstration
of pyocyanin and fluorescin.
J. Lab. clin. Med. 44 (1954), 301.
61. K l i n g e, K.: Differential techniques and methods of
isolation of *Pseudomonas*.
J. appl. Bact. 23 (1960), 442.
62. K n i g h t, V., R.C. H a r d y, and J. N e g r i n :
Meningitis due to *Pseudomonas aeruginosa*.
J. Amer. Med. Ass. 15 (1952), 1395.
63. K ö h l e r, W.: *Pseudomonas aeruginosa* (*Bacterium pyocy-*
aneum): Cytologie, Biochemie und Serologie.
Wissenschaftl. Ztschr. Univ. Rostock.
Math.-nat. Reihe 7 (1957/58), 25.
64. K r a m e r, H.: Neue Untersuchungen über die antago-
nistische Wirkung der Pyocyanase.
Ztschr. Immun. Forschg. 84 (1935), 505.
65. K r e b s, D. und W. M a h n e r :
Zur heutigen Bedeutung von Infektionen
mit *Pseudomonas aeruginosa* und ihre
Therapie.
Ärztl. Laborat. 9 (1963), 296.
66. K r e i t n e r, H.:
Die Pyocyaneusinfektion und ihre Behand-
lung.
Wien. Klin. Wschr. 64 (1952), 370.

67. Krüger, A. und W. Frank :

Pseudomonas aeruginosa (*Bacterium pyocyaneum* in der Milch, insbesondere in Vorzugsmilch).

Arch. Lebensm. Hyg. 8 (1957), 274.

68. Kundrat, W.:

Die Bedeutung der kältetoleranten Keime für die Milchwirtschaft.

Alimenta 1 (1970), 14.

69. Lambardt, A.:

Pyocyaneus-Mastitis nach Weidetetanie.

Tierärztl. Umschau 11 (1956), 453.

70. Levine, M. and D.Q. Anderson :

Two new species of bacteria causing mustiness in eggs.

J. Bact. 23 (1932), 337.

71. Loda, P. und G. Panina :

Infezione spontanea da *Pseudomonas aeruginosa* nei polli adulti (Über eine durch *Pseudomonas aeruginosa* hervorgerufene Infektion bei erwachsenen Hühnern).

Vet. Ital. 7 (1956), 781.

72. Lode, A.:

Bacillus pyocyaneus.

Handb. path. Mikroorg. VI, 1 (1929), 149.

73. Long, H.F. und B.W. Hammer :

Verbreitung von *Pseudomonas putrefaciens*.

Ref. J. Dairy Sci. 25 (1942), 4.

74. Lorenz, F.W., P.B. Starr, M.P. Starr, and
F.X. Ogasawara :

The development of *Pseudomonas* spoilage in shell eggs. I. Penetration through the shell.

Food Research 17 (1952), 351.

75. L o t t, G.: Die Bedeutung kältetoleranter Keime für die Fleischwirtschaft.
Alimenta 1 (1970), 17.
76. L o t t, G.: Zum Vorkommen von Pseudomonaden in Fleisch und Fleischwaren sowie einige Eigenschaften dabei isolierter Stämme.
Alimenta Sondernummer (1971), 60.
77. L y s e n k o, O.: Pseudomonas - an attempt at a general classification.
J. gen. Microbiol. 25 (1961), 379.
78. M a g i l t o n, J.H.:
Pseudomonas mastitis - a case report.
J. Amer. Vet. Med. Ass. 134 (1959), 34.
79. M c M i l l a n, M., T.M.L. P r i c e, D.M. M c L a -
r e n, and G.W. S c o t t :
Pseudomonas pyocyanea infection treated with colistin methane sulphonate.
Lancet II (1962), 737.
80. M e r m e r s k i, K.:
Untersuchungen der ursächlichen Beteiligung von Pseudomonas aeruginosa, Bordetella bronchiseptica und Mycoplasmen bei Rhinitis atrophicans der Schweine.
Zbl. Vet. Med. 18 (1971), 557.
81. M e u s e r, H. und H. H a s c h e k :
Die modernen Antibiotika in der gezielten antibakteriellen Therapie der Harnwegsinfektion.
Wien. Med. Wschr. 101 (1951), 840.

82. M o s s e l, D.A.A. and H. Z w a r t :
The rapid tentative recognition of
psychrotrophic types among Enterobac-
teriaceae isolated from foods.
J. appl. Bact. 23 (1960), 185.
83. M ü l l e r, R.: Medizinische Mikrobiologie.
Urban & Schwarzberg München-Berlin (1950).
84. N i l s s o n, P.O. und H. T h ö r n e :
Über die Häufigkeit der Pseudomonas-
Mastitiden.
Nord. Vet. Med. 15 (1963), 239.
85. P a t e r s o n, A.C.:
Bacteriocinogeny and lysogeny in the genus
Pseudomonas.
J. gen. Microbiol. 39 (1965 a), 295.
86. P e t e r s d o r f, R.G. and E.W. H o o k :
The use of colistin in the treatment of
infections to the urinary tract.
Bull. Johns Hopkins Hosp. 107 (1960), 135.
87. P o e t s c h k e, G.:
Diskussionsbemerkungen zum Thema Anti-
biotische Stoffe.
Zbl. Bakt. u. Parasitenkunde I, 155
(1950), 97.
88. P u l v e r e r, G. und H. K o r t h :
Zur Biochemie und Fermentstruktur von
Pseudomonas aeruginosa.
Zbl. Bakt. I. Orig. 186 (1962), 36.
89. P ü s c h n e r, J. und H. T o e p f e r :
Ein Beitrag zum Vorkommen von Bakterien
der Pseudomonas-Gruppe bei Schlachttieren.
Tierärztl. Umschau 12 (1967), 611.

90. R a u b i t s c h e k, H. und V.K. R u s s :
Zur Kenntnis der bakteriziden Eigenschaften der Pyocyanase.
Zbl. Bakt. I. Orig. 48 (1909), 144.
91. R a y, C.R., A.A. K r a f t, R.G. S e i l s und
E.W. B i r d :
Der Einfluß der Temperatur auf einige mit der Verderbnis von Hühnchen zusammenhängende biochemische Charakteristika von Pseudomonas.
J. Food. Science 34 (1967), 279.
92. R h o d e s, M.E.: The characterisation of Pseudomonas fluorescens.
J. gen. microbiol. 21 (1959), 221.
93. R i k e r, A.J., W.M. B a n f i e l d, W.H. W r i g h t,
G.W. K e i t t, and H.E. S a g e n :
Studies on infectious hairy root of nursery apple trees.
J. agric. Res. 41 (1930), 507.
94. R o l l e, M. : Mikrobiologie und allgemeine Seuchenlehre.
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart (1958), 245.
95. S a u e r, B.: Untersuchungen über das Vorkommen von Pseudomonas aeruginosa bei Haustieren und in ihrer Umgebung.
Vet. med. Diss. Hannover (1963).
96. S c h i e k, W.: Hospitalismus durch Pseudomonas aeruginosa.
Med. Mschr. 22 (1968), Nr. 4, 163.

97. S c h ö n b e r g, F. und R. K ö n e k a m p :

Zur Temperaturabhängigkeit der Proteolyse durch psychrotolerante Bakterien, insbesondere *Pseudomonas fluorescens*, *liquefaciens*, gleichzeitig ein Beitrag zur Haltbarkeit von verpacktem und gekühltem Hackfleisch.

Arch. Lebensmittelhygiene 13 (1962), 160.

98. S c h u b e r t, R.H.W., J.G. E s a n u und F. E s a n u :

Ein vereinfachtes Schema zur Identifikation der im Oberflächen- und Grundwasser vorkommenden *Pseudomonas*-Arten.

Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B 158 (1973), 183.

99. S e i d e l, G. und W. M u s c h t e r :

Die bakteriellen Lebensmittelvergiftungen. Akademie-Verlag Berlin (1967).

100. S h e r r i s, J.C., J.G. S h o e s m i t h, M.T. P a r k e r, and D. B r e c k o n :

Tests for the rapid breakdown of arginine by bacteria: their use in the identification of *pseudomonas*.

J. gen. Microbiol. 21 (1959), 389.

101. S h e w a n, J.M., G. H o b b s, and W. H o d g k i s s :

A determinative scheme for the identification of certain genera of gramnegative bacteria. With special reference to the *Pseudomonadaceae*.

J. appl. Bact. 23 (1960), 378.

102. S i e r r a, G.: A simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. Leeuwenhoek ned. Tijdschr. 23 (1957), 15.
103. S i l l i k e r, J.H., J.L. S h a n k, and H.P. A n d r e w s : Simultaneous determination of total count and fluorescent pseudomonads in fresh meat and poultry. Food Technol. 12 (1958), 255.
104. S k e r m a n, V.B.D.: A guide of the identification of the genera of bacteria. 2nd ed. Williams and Wilkins Book Co. Baltimore (1967).
105. S n e a t h, P.H.A.: Cultural and biochemical characteristics of the genus Chromobacterium. J. gen. Microbiol. 15 (1956), 70.
106. S o n n e n s c h e i n, C.: Pyocyanus-Meningitis. Klin. Wschr. 2 (1923), 1758.
107. S t a n i e r, R.Y., N.J. P a l l e r o n i, and M. D o u d o r o f f : The aerobic Pseudomonads: a taxonomic study. J. gen. Microbiol. 43 (1966), 150.
108. S t o k e s, J.L. and M.L. R e d m o n d : Quantitative ecology of psychrophilic micro-organisms. Appl. Microbiol. 14 (1966), 741.

109. S w i f t, P.N.: Clinical aspects of the toxicity of polymyxin A, B and E.
Lancet II (1953), 110.
110. T h o m a s, S.B.: Psychrophilic micro-organisms.
The supplement to Dictionary of Dairying, London (1965), 1789.
111. T h ö r n e, H. und P.O. N i l s s o n :
Der Nachweis von Pseudomonas aeruginosa in Milchproben.
Nord. Vet. Med. 14 (1962), 547.
112. T h o r n l e y, M.J.:
The differentiation of Pseudomonas from other Gram-negative bacteria on the basis of arginine metabolism.
J. appl. Bact. 23 (1960), 37.
113. W a h b a, A.H.: The production and inactivation of pyocines.
J. Hyg. (Camb.) 61 (1963), 431.
114. W a s s e r m a n n, A.E.:
Absorption and fluorescence of water-soluble pigments produced by four species of pseudomonas.
Appl. Microbiol. 13 (1965), 175.
115. W h i t e, A.J., C.M. A l v e r o n, M.J. B a k e r, and E.B. J a c k s o n :
Comparative biological studies of polymyxin and aerosporin.
Ann. New York Acad. Sc. 51 (1949), 891.
116. W i l l i a m s o n, D.H. and J.F. W i l k i n s o n :
The isolation and estimation of poly- β -hydroxybutyrate inclusions of Bacillus species.
J. gen. Microbiol. 19 (1958), 198.

117. Z e l l e r, M.: Partielle Erweichung von Würstchen
durch Befall mit *Pseudomonas*
fluorescens.
Arch. Lebensmittelhyg. 20 (1969), 206.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. L. Kotter danke ich recht herzlich für die Überlassung des Themas.

Herrn Priv.-Doz. Dr. W. Kundrat gebührt mein aufrichtiger Dank für den stets gewährten Rat und seine ehrliche Anteilnahme am Gelingen dieser Arbeit.

Herrn Vet.-Dir. Dr. J. Püschner bin ich für die Bereitstellung des Untersuchungsmaterials und sein Interesse an der Arbeit sehr zu Dank verpflichtet.



L e b e n s l a u f

Am 24. August 1949 wurde ich in Berlin als Sohn des Hochbauingenieurs Günter Ruprecht und seiner Ehefrau Liselotte Ruprecht, geb. Fink, geboren. 1961 zogen meine Eltern mit mir an den Bodensee nach Radolfzell, wo ich in das dortige Gymnasium eintrat. Nach bestandener Reifeprüfung begann ich 1968 mein Veterinärmedizinstudium an der Freien Universität Berlin. 1972 wechselte ich nach München über. Hier heiratete ich im September. Am 18. Oktober 1973 erhielt ich die Bestallung als Tierarzt.

